

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Bakteri *Rhizobium*

Bakteri berasal dari kata *bakterion* (bahasa Yunani) yang berarti tongkat atau batang. Bentuk bakteri dibagi atas tiga golongan, yaitu golongan basil (tongkat/batang), golongan kokus (bulat), dan spiril (bengkok). Bentuk tubuh bakteri dipengaruhi oleh keadaan medium dan usia bakteri (Dwijoseputro, 2010).

Bakteri merupakan mikroba uniseluler, pada umumnya tidak mempunyai klorofil. Ada beberapa yang fotosintetik dan reproduksi aseksual dengan pembelahan sel. Bakteri umumnya berukuran kecil dengan karakteristik dimensi sekitar 1  $\mu\text{m}$ . Sel dapat tunggal ataupun rantai. Beberapa kelompok memiliki flagella dan dapat bergerak aktif. Bakteri memiliki berat jenis 1,05-1,1  $\text{g cm}^{-3}$  dan berat sekitar  $10^{-12}$  g sebagai partikel kering, bentuknya ada bulat (*cocci*), batang (*bacil*) dan lengkung. Bentuk bakteri dipengaruhi oleh umur dan syarat pertumbuhan tertentu. Bakteri dikenal dengan bentuk yang disebut involusi, yaitu perubahan bentuk yang disebabkan karena faktor-faktor keadaan sekitar yang tidak menguntungkan seperti faktor makanan, suhu dan hal lain yang kurang menguntungkan bagi bakteri. Selain bentuk involusi dikenal pula *pleomorfi*, yaitu bentuk yang bermacam-macam dan teratur yang terdapat pada suatu bakteri meskipun ditumbuhkan pada syarat-syarat pertumbuhan yang sesuai (Hidayat *et al.*, 2006).

*Rhizobium* merupakan bakteri yang mampu bersimbiosis dengan tanaman leguminosa. Akar tanaman akan mengeluarkan suatu zat yang merangsang aktifitas bakteri *Rhizobium*. Apabila bakteri sudah bersinggungan dengan akar rambut, akar rambut akan mengeriting. Setelah memasuki akar, bakteri

berkembang biak ditandai dengan pembengkakan akar. Pembengkakan akar akan semakin besar dan akhirnya terbentuklah bintil akar (Hidayat *et al.*, 2006).

Holl (1975) *cit.* Surtiningsih *et al.*, (2009) karakteristik bakteri *Rhizobium* secara makroskopis adalah warna koloni putih susu, tidak transparan, bentuk koloni sirkuler, konveks, semitranslusen, diameter 2-4 mm dalam waktu 3-5 hari pada agar khamir-manitol-garam mineral. Secara mikroskopis sel bakteri *Rhizobium* berbentuk batang, aerobik, gram negatif dengan ukuran 0,5-0,9 x 1,2-3  $\mu\text{m}$ , bersifat motil pada media cair, umumnya memiliki satu flagella polar atau subpolar. Untuk pertumbuhan optimum dibutuhkan temperature 25-30<sup>0</sup>C, pH 6-7 (kecuali galur-galur dari tanah masam).

## **2.2. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Fermentasi**

Fermentasi berasal dari Bahasa Latin *fervere* yang berarti merebus (*to boil*) (Wikipedia, 2011). Pengertian fermentasi dalam mikrobiologi adalah perubahan gradual oleh enzim beberapa bakteri, khamir, dan jamur (Hidayat *et al.*, 2006). Fermentasi adalah suatu proses untuk menghasilkan produk dengan melibatkan aktivitas mikroba secara terkontrol, baik dalam kondisi aerob maupun anaerob (Yulneriwarni, 2008).

Faktor-faktor yang mempengaruhi fermentasi meliputi mikrobia, bahan dasar, sifat-sifat proses, pilot-plant, faktor sosial ekonomi dan faktor lingkungan perusahaan. Proses fermentasi yang penting dalam industri komersial adalah produksi sel mikrobia, produksi enzim mikrobia, produksi hasil metabolisme mikrobia dan proses transformasi. Fermentasi dilakukan dalam skala laboratorium, skala pilot plan dan skala industri. Fermentasi skala laboratorium digunakan untuk penelitian yang terkait dengan peningkatan produksi oleh

mikroba. Fermentasi skala pilot plan digunakan untuk mendisain proses fermentasi yang akan diterapkan dalam industri, sedangkan fermentasi skala industri adalah untuk memproduksi produk dalam jumlah maksimal hingga dapat digunakan oleh konsumen (Hidayat *et al.*, 2006).

Mikroorganisme dalam proses fermentasi harus mempunyai karakteristik penting, yaitu mikroorganisme harus mampu tumbuh dengan cepat dalam suatu substrat dan lingkungan yang cocok untuk memperbanyak diri, mikroorganisme harus memiliki kemampuan untuk mengatur ketahanan fisiologi dan memiliki enzim-enzim esensial yang mudah dan banyak supaya perubahan-perubahan kimia yang dikehendaki dapat terjadi, dan kondisi lingkungan harus sesuai supaya produksi maksimum (Suprihatin, 2010).

### **2.3. Sumber Substrat**

#### **a. Ampas Tahu**

Fasikah dan Kristiastuti (2013) menyatakan ampas tahu merupakan hasil sampingan dari proses pembuatan tahu. Ampas tahu memiliki kadar protein dan air yang tinggi sehingga menyebabkan banyak bakteri yang tumbuh dan akhirnya limbah tahu tersebut berbau tidak sedap sehingga mencemari lingkungan. Untuk menghindari pencemaran maka ampas tahu dimanfaatkan untuk alternatif berbagai sumber pangan. Kadar protein ampas tahu cukup tinggi 24,77% dan kadar karbohidrat 25,46% (Rusdi *et al.*, 2011).

Berdasarkan penelitian Widanti dan Susilawati (2011) limbah tahu dapat dimanfaatkan sebagai substrat pertumbuhan yeast *S. cerevisiae* dengan hasil penelitian didapat jumlah koloni dan berat kering sel masing-masing  $50 \times 10^7$  cfu/ml dan 0,049 g/ml dengan waktu optimum 48 jam inkubasi pada suhu kamar.

b. Dedak

Dedak padi merupakan hasil ikutan penggilingan padi atau sisa penumbukan padi. Dedak padi berasal dari gabah padi. Gabah padi jika digiling akan menghasilkan beras sebanyak 50-60%, sisanya menir 1-17%, sekam 20-25%, dedak 10-15%, dan bekatul 3%. Dedak padi harganya cukup murah. Dedak padi mengandung protein 11,9%, serat kasar 10%, energi metabolisme 2730 kkal/kg, dan mineral Ca dan P 0,01% dan 1,51% (Agus, 2012). Menurut Farid (2011) karbon merupakan unsur dasar pembangunan sel dan sumber energi. Dedak padi merupakan sumber karbohidrat yang memiliki banyak karbon (C), nitrogen (N) yang dapat digunakan sebagai bahan tambahan nutrisi pada media tumbuh, selain itu dedak padi juga mengandung vitamin B<sub>1</sub> (thiamin) dan vitamin B<sub>2</sub>. Selanjutnya dinyatakan mikroorganisme pada umumnya menggunakan berbagai macam karbohidrat sebagai sumber utama energi, baik polisakarida, disakarida, dan monosakarida (Farid, 2011).

Gufran dan kordi (2010) menyatakan dedak merupakan komponen yang paling umum digunakan sebagai campuran dalam pembuatan pakan. Bahan baku ini mudah diperoleh dari tempat penggilingan padi dan harganya murah. Dari hasil analisis, dedak mengandung protein 9,6-10,86%, lemak 0,12-11,9%, karbohidrat 34,18-4,73%, serat kasar 10,73-45,15% dan air 10,21%.

Berdasarkan penelitian Syamsuriputra *et al.* (2006) produksi asam sitrat tertinggi didapat pada penambahan dedak padi 0,4% dan kadar air 60% dalam substrat sebesar 36,58 gram/100 gram ampas tapioka. Penambahan dedak padi 0,4% meningkatkan perolehan asam sitrat sebesar 7%. Penambahan dedak padi

pada substrat menyediakan kebutuhan nitrogen, fosfor, vitamin, mineral, dan asam amino yang dibutuhkan mikroba dalam menghasilkan asam sitrat.

Penambahan dedak padi fermentasi menggunakan bakteri *Saccharomyces cerevisiae* memiliki kandungan protein yang lebih besar (21,14%) dibandingkan dengan pakan kontrol (dedak yang tidak difermentasi). Pemberian dedak fermentasi berpengaruh pada pertumbuhan ikan patin dengan bobot berat badan sebesar  $7,561 \pm 2,180$  gram (Mediawati, 2009).

Fungsi dedak dalam proses fermentasi adalah sebagai substrat, penambahan dedak dalam substrat akan dimanfaatkan oleh mikroba sebagai sumber energi untuk pertumbuhan dan perkembangan, sehingga menyebabkan mikroba cepat tumbuh dan mudah berkembang biak. Pemberian dedak dan ampas tahu fermentasi dengan kapang *Monascus purpureus* dalam ransum dapat meningkatkan konsumsi ransum, produksi telur, massa telur dan warna kuning telur ayam (Rusli, 2011).

c. Tepung Udang

Tepung udang merupakan tepung yang dibuat dari bagian udang tidak dikonsumsi manusia/ekspor terdiri atas kepala dan kulit secara keseluruhan dan dengan konversi 30-40% dari total tubuh udang (Tim Laboratorium Ilmu dan Teknologi Pakan Fakultas Peternakan IPB). Tepung udang mengandung protein 38-40%, lemak minimal 3%, serat kasar maksimal 5%, kadar air maksimal 12% dan kadar abu maksimal 12%.

d. Urea

Urea adalah suatu senyawa yang terdiri dari unsur karbon, oksigen dan nitrogen dengan rumus  $\text{CON}_2\text{H}_4$  atau  $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$  (Indarto, 2010). Urea merupakan

pupuk buatan hasil persenyawaan  $\text{NH}_4$  (ammonia) dengan  $\text{CO}_2$ . Bahan dasarnya biasanya berupa gas alam dan merupakan ikatan hasil tambang minyak bumi. Kandungan N total berkisar antara 45-46% (Distan, 2011).

Urea adalah senyawa sintetis dengan kadar protein yang tinggi. Pada ternak urea berfungsi sebagai sumber nitrogen untuk sintesis protein oleh mikroba rumen. Urea yang diberikan biasanya mengandung 42-46% nitrogen (Agus, 2012).

Penambahan 5 gr urea sebagai sumber nitrogen dalam pembuatan nata de coco memberikan hasil fermentasi yang lebih baik dengan perolehan yield dan ketebalan nata yang lebih besar dibandingkan dengan tidak ditambah urea (Hamad dan Kristiono, 2013).

f. Ammonium Sulfat

Ammonium sulfat atau ZA adalah pupuk kimia buatan yang dirancang untuk memberi tambahan hara nitrogen dan belerang bagi tanaman. Nama ZA adalah singkatan dari istilah bahasa Belanda, *zwavelzure ammoniak*, yang berarti amonium sulfat ( $\text{NH}_4\text{SO}_4$ ). Berbentuk Kristal, pupuk ini higroskopis (mudah menyerap air) walaupun tidak sekuat pupuk urea (Wikipedia, 2014).

Pupuk ZA merupakan pupuk anorganik terdiri atas senyawa sulfur 24% dalam sulfat dan nitrogen 21% dalam bentuk ammonium yang mudah larut dan diserap tanaman. Fungsi nitrogen bagi tanaman membuat bagian tanaman menjadi lebih hijau segar, mempercepat pertumbuhan, menambah kandungan protein. Fungsi belerang bagi tanaman membantu pembentukan butir hijau daun sehingga daun menjadi hijau, menambah kandungan protein, vitamin dan meningkatkan jumlah anakan pada tanaman padi (Kiswondo, 2011).

Menurut Rossi *et al.* (2008) ammonium sulfat adalah sumber nitrogen yang mudah diperoleh dan harganya lebih murah dibandingkan sumber N lainnya. Pemberian ammonium sulfat 0,83% sudah cukup memenuhi kebutuhan nitrogen bakteri *Acetobacter xilinum* untuk biosintesis protein selnya sehingga bakteri tersebut dapat tumbuh dan berkembang. Penggunaan ammonium sulfat optimal 0,83% dengan jumlah bakteri 21,27 log cfu/ml.

#### **2.4. Fungsi Kandungan Substrat**

Widjaja dan Sunarto (2007) menyatakan nutrisi merupakan salah satu faktor yang berpengaruh bagi bakteri. Nutrisi yang dibutuhkan harus mengandung unsur nitrogen, karbon, dan fosfor. Mikroba membutuhkan nitrogen untuk sintesis protein dan asam nukleat. Asam nukleat (DNA dan RNA) fungsinya sebagai informasi genetik dalam sel. Fosfor berfungsi untuk sintesis ATP, asam nukleat dan membran sel. N dan P dibutuhkan untuk pertumbuhan sel dan biosintesis mikroba.

##### **a. Sumber Nitrogen**

Nitrogen adalah salah satu unsur yang diperlukan oleh semua jasad hidup untuk sintesis protein. Mikroba membutuhkan nitrogen baik nitrogen anorganik maupun organik. Menurut Puspitasari dan Sidik (2009) nitrogen anorganik biasa didapat dari ammonium sulfat  $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ , ammonium nitrat  $(\text{NH}_4\text{NO}_3)$ , diammonium fosfat  $(\text{NH}_4)_2 \text{HPO}_4$  dan urea  $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ . Pertumbuhan mikroba membebaskan enzim proteolitik yang dapat merubah senyawa-senyawa protein menjadi asam amino. Sejumlah nitrogen sangat dibutuhkan dalam pertumbuhan, karena nitrogen tersebut terkandung dalam protein dan asam nukleat.

Menurut Sumarsih (2003) mikroba dapat menggunakan nitrogen dalam bentuk ammonium, nitrat, asam amino, protein dan sebagainya. Beberapa mikroba dapat menggunakan nitrogen dalam bentuk gas N<sub>2</sub> (zat lemas) udara. Mikroba ini disebut mikrobia penambat nitrogen.

b. Sumber Karbon

Sumber karbon merupakan salah satu komponen yang paling penting dalam media fermentasi, karena komponen sel mikroba sebagian besar terdiri dari unsur-unsur karbon. Karbohidrat merupakan sumber karbon yang paling banyak digunakan dalam suatu proses fermentasi (Trismilah dan Wahyuntari, 2009). Mikroba dalam melakukan metabolisme memerlukan energi. Sumber energi tersebut berasal dari sumber karbon seperti karbohidrat, lipid, dan protein.

Menurut Sumarsih (2003) sumber karbon untuk mikroba dapat berbentuk senyawa organik maupun anorganik. Senyawa organik meliputi karbohidrat, lemak, protein, asam amino, asam organik, garam asam organik, polialkohol dan lain-lain. Senyawa anorganik misalnya karbonat dan gas CO<sub>2</sub> yang merupakan sumber karbon utama terutama untuk tumbuhan tingkat tinggi.

c. Vitamin dan Mineral

Sebagian besar sumber karbon dan nitrogen alami mengandung semua atau beberapa vitamin yang dibutuhkan. Defisiensi vitamin tertentu dapat diatasi dengan cara mencampur berbagai substrat sumber karbon dan nitrogen (Jumari *et al.*, 2009).

Mikroba membutuhkan vitamin dan mineral untuk pertumbuhan dan metabolisme. Kebutuhan nutrisi mikroba bervariasi. Mikroba membutuhkan unsur makro (C, O, N, H, P, dan S) sebagai penyusun dari berat kering sel dan unsur



mikro seperti K, Ca, Mg, Cl, Fe, Co, Cu, Zn, dan Mo (Puspitasari dan sidik, 2009).

Mineral merupakan bagian dari sel. Unsur penyusun utama sel adalah karbon, oksigen, nitrogen, hidrogen, fosfor dan unsur mineral lainnya yang diperlukan oleh mikroba adalah K, Ca, Mg, Na, dan Cl. Sedangkan yang diperlukan dalam jumlah yang sangat sedikit adalah Fe, Mn, Co, Cu, Bo, Zn, Mo, dan Al. Selain berfungsi sebagai penyusun sel, unsur mineral juga berfungsi sebagai pengatur tekanan osmose, kadar ion hidrogen, dan permeabilitas (Sumarsih, 2003).

## **2.5. Mekanisme Simbiosis *Rhizobium* dengan Akar Tanaman**

*Rhizobium* membentuk koloni pada akar tanaman legum sebagai pengenalan terhadap inangnya. Spesies *Rhizobium* yang berbeda, berbeda pula inangnya. Proses infeksi dimulai dengan cara penetrasi bakteri ke dalam sel rambut akar sehingga menyebabkan pertumbuhan rambut akar keriting akibat dari adanya auksin yang dihasilkan oleh bakteri. Benang infeksi terus berkembang sampai di kortek dan menggandakan percabangan. Percabangan ini menyebabkan jaringan kortek membesar yang disebut bintil akar. Waktu antara infeksi sampai dengan bakteri mampu memfiksasi N<sub>2</sub> sekitar 3-5 minggu. Selama periode tersebut kebutuhan karbohidrat, nutrient, mineral dan asam amino disediakan oleh inang. Bakteri membentuk satu kompleks enzim yang dibutuhkan untuk menambat nitrogen. Bentuk bakteri dalam satu sel akar yang mengandung nodul aktif (bila dibelah melintang akan terlihat warna merah muda hingga kecoklatan di bagian tengahnya disebut bakteroid. Akar tanaman mengeluarkan senyawa triftopan yang menyebabkan bakteri berkembang pada ujung akar. Senyawa triftopan diubah

oleh *Rhizobium* menjadi IAA (*Indole Acetic Acid*) yang menyebabkan akar membengkok karena adanya interaksi antara akar dan *Rhizobium* kemudian bakteri merombak dinding sel akar tanaman sehingga terjadi kontak antara keduanya. Terbentuklah benang infeksi yang merupakan perkembangan dari membran plasma yang memanjang dari sel terinfeksi. Setelah itu *Rhizobium* berkembang di dalam benang infeksi yang menjalar menembus sel-sel korteks sampai parenkim dalam sel kortek *Rhizobium*, dilepas di dalam sitoplasma untuk membentuk bakteroid dan menghasilkan stimulan yang merangsang sel korteks untuk membelah. Pembelahan tersebut menyebabkan proliferasi jaringan, membentuk struktur bintil akar yang menonjol sampai keluar akar tanaman, yang mengandung bakteri *Rhizobium* (Armiadi, 2009).

Akar tanaman melakukan aktivitas metabolisme akar yang mengeluarkan senyawa metabolit melalui akar ke dalam tanah yang disebut eksudat. Eksudat tersebut terdiri dari senyawa-senyawa gula, asam amino, asam organik, glikosida, senyawa nukleotide dan basanya, enzim, vitamin dan senyawa indole, sehingga dapat digunakan sebagai nutrisi untuk bakteri di dalam tanah untuk keberlangsungan hidupnya (Purwaningsih, 2009).

Pranata *et al.* (1981) *cit.* Fuskhah *et al.*, (2014) tanaman inang pada asosiasi *Rhizobium leguminosa* memperoleh hasil fiksasi nitrogen berupa asam amino yang ditranslokasikan melalui xylem, sedangkan bakteri *Rhizobium* mendapatkan senyawa karbon hasil fotosintesis dari tanaman inang.

## **2.6. Potensi Penambat *Rhizobium* dalam Mengikat N**

*Rhizobium* merupakan kelompok penambat nitrogen yang bersimbiosis dengan tanaman kacang-kacangan. Kemampuan penambatan pada simbiosis

*Rhizobium* dapat mencapai 80 kg N<sub>2</sub>/ha/thn atau lebih. Keuntungan penggunaan bakteri *Rhizobium* sebagai pupuk hayati adalah: (1) mampu meningkatkan ketersediaan unsur hara, tidak mempunyai bahaya atau efek samping, (2) efisiensi penggunaan yang dapat ditingkatkan sehingga bahaya pencemaran lingkungan dapat dihindari, (3) harganya relatif murah, dan (4) teknologinya atau penerapannya relatif mudah dan sederhana (Novriarni, 2011).

*Rhizobium* mampu meningkatkan penyerapan fosfat. Dalam perkembangan akar dan pembentukan polong kedelai unsur fosfat diperlukan. *Rhizobium* mampu meningkatkan ketersediaan dan penyerapan nitrogen di dalam tanah serta menyumbangkan zat *fitohormon* IAA dan giberelin yang dapat meningkatkan pertumbuhan akar dan cabang tanaman kedelai (Novriarni, 2011).

## **2.7. Pertumbuhan Bakteri**

Pertumbuhan adalah penambahan secara teratur semua komponen dari dalam sel hidup. Pada organisme multiseluler pertumbuhan adalah peningkatan jumlah sel pada organisme. Pada organisme uniseluler (bersel tunggal) pertumbuhan adalah penambahan jumlah sel, yang berarti juga penambahan jumlah mikroorganisme. Ukuran sel tergantung dari kecepatan pertumbuhan. Semakin baik zat nutrisi didalam substratnya mengakibatkan pertumbuhan sel semakin cepat dan ukuran sel semakin besar. Bakteri adalah sel prokariotik yang tumbuh dengan cara pembelahan biner. Kecepatan pertumbuhan mikroorganisme dipengaruhi nutrisi dalam medium, suhu, pengaruh aktifitas air, pH, dan oksigen (Suprihatin, 2010).

Kegiatan mikroba dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan. Perubahan yang terjadi di lingkungan dapat mengakibatkan terjadinya perubahan sifat

morfologi dan fisiologi jasad. Beberapa golongan jasad sangat resisten terhadap perubahan lingkungan karena dengan cepat melakukan adaptasi lingkungan. Faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme yaitu, faktor biotik (interaksi antar mikroorganisme dan asosiasi mikroorganisme dengan tumbuhan) dan faktor abiotik (suhu, kelembaban dan pengeringan, pH, tekanan osmosis, ion-ion logam, iradiasi, tekanan dan komposisi medium (Hidayat *et al.*, 2006).

### **2.7.1. Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri**

#### **a. Suhu**

Mikroba dapat tumbuh pada kisaran suhu tertentu. Suhu merupakan faktor penting dalam kehidupan mikroba. Suhu pertumbuhan mikroba yaitu suhu minimum, maksimum, dan optimum. Suhu optimum adalah suhu yang paling baik untuk kehidupan mikroba. Suhu maksimum adalah suhu tertinggi. Suhu minimum adalah suhu yang paling rendah yang masih dapat menumbuhkan mikroba tetapi pada tingkat kegiatan fisiologi yang paling rendah (Hidayat *et al.*, 2006).

Atas dasar suhu pertumbuhannya, mikroba dapat dibedakan menjadi 3 golongan, yaitu psikrofil, mesofil, dan termofil. Mikroba psikrofil dapat tumbuh pada suhu antara 0-30<sup>0</sup>C, dengan suhu optimum 15<sup>0</sup>C. Kebanyakan tumbuh di tempat-tempat dingin, baik di daratan maupun lautan. Mikroba mesofil mempunyai suhu optimum antara 25-37<sup>0</sup>C, dengan suhu minimum 15<sup>0</sup>C dan suhu maksimum antara 45-55<sup>0</sup>C. Mikroba ini banyak hidup dalam saluran pencernaan, tanah, dan perairan. Mikroba termofil dapat tumbuh pada suhu 40-75<sup>0</sup>C dengan suhu optimum 55-60<sup>0</sup>C. Mikroba yang ditumbuhkan pada suhu di atas suhu

maksimumnya, protein dan enzim dalam selnya akan mengalami denaturasi yang mengakibatkan terhentinya proses metabolisme (Hidayat *et al.*, 2006).

Suhu rendah akan menghambat pertumbuhan mikroba kecuali mikroba yang tergolong psikrofil dan psikrotrof. Psikrofil adalah mikroba yang mempunyai suhu optimum pertumbuhan  $5-15^{\circ}\text{C}$ , dengan suhu minimum pertumbuhan  $-5-0^{\circ}\text{C}$ , dan suhu maksimum pertumbuhan  $15-20^{\circ}\text{C}$ . Psikotrof adalah mikroba yang sebenarnya bersifat mesofil, yaitu mempunyai suhu optimum pertumbuhan  $20-40^{\circ}\text{C}$ , tetapi masih dapat tumbuh pada suhu yang optimum untuk psikrofil. Mesofil yaitu golongan mikroba yang mempunyai suhu pertumbuhan optimum  $20-40^{\circ}\text{C}$  dengan suhu minimum pertumbuhan  $10-20^{\circ}\text{C}$ , suhu maksimum  $40-45^{\circ}\text{C}$ . Termofil adalah mikroba yang mempunyai suhu optimum pertumbuhan  $45-60^{\circ}\text{C}$ , suhu minimum pertumbuhan  $25-45^{\circ}\text{C}$  dan suhu maksimum  $60-80^{\circ}\text{C}$  (Fardiaz, 1989).

Menurut Hajoeningtjas (2012) semua proses pertumbuhan bergantung pada reaksi kimiawi dan arena laju reaksi-reaksi ini dipengaruhi oleh suhu maka pola pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh suhu. Suhu juga mempengaruhi laju pertumbuhan dan jumlah total pertumbuhan organisme. Keragaman suhu dapat juga mengubah proses-proses metabolik tertentu serta morfologi sel.

b. pH

Nilai pH untuk pertumbuhan mikroba mempunyai hubungan dengan suhu pertumbuhannya. Jika suhu pertumbuhan naik, pH optimum untuk pertumbuhan juga naik. Dalam fermentasi, kontrol pH penting sekali dilakukan karena pH yang optimum harus dipertahankan selama fermentasi. Perubahan pH dapat terjadi selama fermentasi karena H dilepaskan selama konsumsi  $\text{NH}_4$  dan dikonsumsi

selama metabolisme  $\text{NO}_3^-$  dan penggunaan asam amino sebagai sumber karbon. Untuk menjaga agar pH dalam medium konstan, maka perlu ditambahkan zat-zat buffer, misalnya  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  dan  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ . Dalam campuran garam tersebut garam-garam dibasis akan mengadsorpsi ion-ion  $\text{H}^+$ , sedang garam-garam monobasis akan menyerap ion  $\text{OH}^-$ . Berdasarkan pH yang ada, mikroba dikenal dengan asidofil, neurofil, dan alkalifil. Asidofil adalah mikroba yang tumbuh pada kisaran pH 2-5. Mikroba neurofil adalah mikroba yang dapat tumbuh pada pH 5,5-8 sedangkan alkalifil adalah dapat tumbuh pada pH 8,4-9,5. Kebanyakan bakteri mempunyai pH optimum sekitar 6,5-7,5. pH di bawah 5 dan di atas 8,5 bakteri tidak dapat tumbuh dengan baik (Hidayat *et al.*, 2006).

c. Pengaruh Oksigen

Berdasarkan akan kebutuhan oksigen mikroba dapat dibedakan yaitu mikroba yang bersifat aerobik, anaerobik dan anaerobik fakultatif. mikroba aerobik yaitu mikroba dapat tumbuh apabila ada oksigen bebas. Anaerobik yaitu hanya dapat tumbuh jika tidak ada oksigen, anaerobik fakultatif yaitu mikroba dapat tumbuh dengan baik tanpa oksigen bebas dan mikroaerofilik yaitu dapat tumbuh apabila ada oksigen dalam jumlah kecil. Dalam fermentasi menggunakan mikroba aerobik, aerasi selama fermentasi sangat berpengaruh terhadap produk akhir yang dihasilkan. Setiap bakteri mempunyai suatu enzim yang tergolong flavoprotein yang dapat bereaksi dengan oksigen membentuk senyawa-senyawa beracun yaitu  $\text{H}_2\text{O}_2$  dan suatu radikal bebas  $\text{O}_2^-$ . Bakteri yang bersifat aerobik mempunyai enzim superoksida dismutase yang memecah radikal bebas tersebut, dan enzim katalase yang memecah  $\text{H}_2\text{O}_2$  sehingga menghasilkan senyawa-senyawa akhir yang tidak beracun (Suprihatin, 2010).

d. Sumber Nutrisi

Kecepatan pertumbuhan pada fase logaritmik dipengaruhi oleh tersediannya nutrisi di dalam medium dan dapat mencapai maksimum. Semakin baik zat nutrisi di dalam substrat mengakibatkan pertumbuhan sel semakin cepat dan ukuran sel semakin besar. Kecepatan pertumbuhan mempengaruhi ukuran sel dan jumlah asam nukleat di dalam sel. Semakin tinggi kecepatan pertumbuhan semakin besar ukuran sel dan semakin tinggi jumlah asam nukleat di dalam sel. Demikian pula semakin tinggi kecepatan pertumbuhan akan meningkatkan jumlah massa sel. Kebutuhan nutrisi mikroba bervariasi. Mikroba membutuhkan unsur makro (C, O, N, H, P, dan S) sebagai penyusun dari berat kering sel dan unsur mikro seperti K, Ca, Mg, Cl, Fe, Co, Cu, Zn, dan Mo (Puspitasari dan sidik, 2009).

e. Aktivitas Air

Mikroba memerlukan air untuk hidup dan berkembang biak. Air merupakan bagian terbesar dari komponen sel (70-80%), air juga berperan sebagai reaktan dalam berbagai reaksi biokimia (Fardiaz, 1989). Tiap jenis mikroba mempunyai kelembaban optimum tertentu. Tidak semua air dalam medium dapat digunakan mikroba. Air yang dapat digunakan disebut air bebas. Air bebas dalam larutan dinyatakan sebagai  $A_w$ , yaitu nilai perbandingan antara tekanan uap air larutan dengan tekanan uap air murni atau 1/100 RH. Nilai  $A_w$  untuk bakteri antara 0,90-0,999 namun bakteri halofil memiliki  $a_w$  mendekati 0,75 (Suprihatin, 2010).

f. Waktu

Laju perbanyakan bakteri bervariasi menurut spesies dan kondisi pertumbuhannya. Pada kondisi optimal, bakteri akan membelah sekali setiap 20 menit. Untuk beberapa bakteri memilih waktu generasi, yaitu selang waktu antara pembelahan, dapat dicapai selama 12 menit, jika waktu generasinya 20 menit pada kondisi yang cocok sebuah sel dapat menghasilkan beberapa juta sel selama 7 jam.

**2.7.2. Fase Pertumbuhan Bakteri**

a. Fase adaptasi

Pada fase ini bakteri baru menyesuaikan diri dengan lingkungan baru, bermacam-macam enzim dan zat perantara dibentuk sehingga keadaannya memungkinkan terjadinya pertumbuhan lebih lanjut. Sel-selnya mulai membesar tetapi belum membelah diri (Suprihatin, 2010).

b. Fase pertumbuhan awal (lag phase)

Pada fase ini bakteri mulai membelah diri dengan kecepatan yang rendah karena baru menyesuaikan diri (Suprihatin, 2010).

c. Fase Pertumbuhan Logaritma (fase pertumbuhan eksponen)

Pada fase ini metabolisme sel paling aktif, sintesis bahan sel sangat cepat dengan jumlah konstan sampai nutrisi habis atau terjadinya penimbunan hasil metabolisme yang menghambat pertumbuhan (Sumarsih, 2003).

d. Fase Pertumbuhan Lambat

Pada fase ini populasi mikroba lambat karena zat-zat nutrisi di dalam medium sudah sangat berkurang, adanya hasil-hasil metabolisme yang beracun atau dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Pada fase ini jumlah populasi



masih naik karena jumlah sel yang tumbuh masih lebih banyak daripada jumlah sel yang mati (Suprihatin, 2010). Kecepatan pembelahan sel berkurang dan jumlah sel yang mati mulai bertambah (Sumarsih, 2003).

e. Fase Pertumbuhan Tetap

Pada fase ini jumlah populasi sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Ukuran sel pada fase ini lebih kecil-kecil karena sel tetap membelah meskipun zat-zat nutrisi sudah habis (Suprihatin, 2010).

f. Fase Menuju Kematian atau Fase Kematian

Pada fase ini mikroba mulai mengalami kematian karena nutrisi di dalam medium sudah habis dan energi cadangan di dalam sel habis. Kecepatan kematian tergantung dari kondisi nutrient, lingkungan, dan jenis mikroba (Suprihatin, 2010). Kecepatan kematian sel terus meningkat sedang kecepatan pembelahan sel nol, sampai pada fase kematian logaritma maka kecepatan kematian sel mencapai maksimal, sehingga jumlah sel hidup menurun dengan cepat, walaupun demikian penurunan jumlah sel hidup tidak mencapai nol, dalam jumlah minimum tertentu sel mikroba akan tetap bertahan sangat lama dalam medium tersebut (Sumarsih, 2003).

## **2.8. Tumbuhan Leguminosa**

Klasifikasi tumbuhan leguminosa antara lain: Kingdom: Plantae, Divisio: magnoliophyta, Class: Magnoliopsida, Ordo: Fabales, Famili: Fabaceae, dan memiliki tiga subfamili: Caesalpinioideae, Mimosoideae, dan Faboideae. Polong-polongan atau Fabaceae merupakan salah satu famili tumbuhan dikotil yang terpenting dan terbesar (Sidik, 2012). Semua tumbuhan anggota suku ini memiliki

satu kesamaan yang jelas, yaitu buahnya berupa polong. Fabaceae pernah dikenal dengan nama Leguminosae serta Papilionaceae. Nama yang terakhir ini kurang tepat, dan sekarang dipakai sebagai nama salah satu subfamili. Dalam dunia pertanian tumbuhan anggota famili Fabaceae ini seringkali disebut sebagai tanaman leguminosa (legume).

Anggota famili Fabaceae ini juga dikenal karena kemampuannya mengikat (fiksasi) nitrogen langsung dari udara (tidak melalui cairan tanah) karena bersimbiosis dengan bakteri *Rhizobium* tertentu pada akar atau batangnya. Jaringan yang mengandung bakteri simbiotik ini biasanya menggelembung dan membentuk bintil-bintil akar (nodul). Setiap jenis biasanya bersimbiosis pula dengan jenis bakteri yang khas pula kecuali beberapa tanaman seperti siratro (*Macroptilium atropurpureum*) yang dapat bersimbiosis dengan bermacam-macam strain *Rhizobium* yang ada dalam tanah. Tanaman Siratro adalah jenis leguminosa yang sering digunakan untuk mengidentifikasi ada tidaknya bakteri *Rhizobium* dalam tanah (Husin, 2012).

Menurut Purwanto (2007) berdasarkan sifat pertumbuhannya tanaman leguminosa dibedakan menjadi tiga kelompok yaitu: tanaman leguminosa menjalar, tanaman leguminosa perdu, tanaman leguminosa pohon. Penanaman tanaman leguminosa menjalar pada tanah atau lahan yang terbuka merupakan salah satu upaya rehabilitasi lahan. Penanaman leguminosa ini sangat berguna dalam meningkatkan daya dukung lahan untuk menunjang usaha pertanian yang berkelanjutan dan berwawasan lingkungan. Selain sebagai tanaman rehabilitasi lahan, tanaman leguminosa juga merupakan sumber karbohidrat dan protein nabati, jenis leguminosa perdu dan pohon menghasilkan kayu dan kayu bakar.

## **2.9. Tanah Gambut**

Lahan gambut adalah ekosistem marginal dan fragile yang terbentuk oleh adanya penimbunan atau akumulasi bahan organik di lantai hutan yang berasal dari reruntuhan vegetasi di atasnya dalam kurun waktu lama. Akumulasi ini terjadi karena lambatnya laju dekomposisi dibandingkan dengan laju penimbunan organik di lantai hutan yang basah atau tergenang. Seperti gambut tropis lainnya, gambut di Indonesia dibentuk oleh akumulasi residu vegetasi tropis yang kaya akan kandungan lignin dan nitrogen (Ratmini, 2010).

Menurut Chotimah (2009) Gambut terbentuk dari seresah organik yang terdekomposisi secara *anaerobik* dimana laju penambahan bahan organik lebih tinggi dari pada laju dekomposisinya. Di dataran rendah dan daerah pantai, mula-mula terbentuk gambut topogen karena kondisi *anaerobik* yang dipertahankan oleh tinggi permukaan air sungai, tetapi kemudian penumpukan seresah tanaman yang semakin bertambah menghasilkan pembentukan hamparan gambut ombrogen yang berbentuk kubah (*dome*). Gambut ombrogen di Indonesia terbentuk dari seresah vegetasi hutan yang berlangsung selama ribuan tahun, sehingga status keharaannya rendah dan mempunyai kandungan kayu yang tinggi.

## **2.10. Pupuk Hayati**

Faktor yang mendorong meningkatnya perhatian terhadap aplikasi pupuk organik hayati (*bio organic fertilizer*) berbasis bahan baku lokal di Indonesia saat ini, yaitu krisis energi yang terjadi belakangan ini menyebabkan meningkatnya harga bahan baku pupuk sehingga produsen tidak mampu memenuhi kebutuhan pupuk dalam negeri maka harga pupuk turut meningkat yang mengakibatkan subsidi pupuk membengkak tiga kali lipat. Faktor lain penggunaan pupuk organik

hayati adalah mulai tumbuhnya kesadaran terhadap potensi pencemaran lingkungan melalui penggunaan pupuk anorganik yang berlebihan dan tidak efisien (Ananty, 2008).

Keberadaan mikroorganisme di dalam tanah sangat penting karena dapat mempertahankan dan meningkatkan kesuburan tanah. Peranan mikroba dalam tanah, antara lain: daur ulang hara, penyimpanan sementara dan pelepasan hara untuk dimanfaatkan tanaman dan lain-lain. Mikroorganisme tersebut melepaskan asam yang keberadaan mikroorganisme di dalam tanah sangat penting karena dapat mampu melarutkan mineral, sehingga unsur hara yang terlarut dapat dimanfaatkan tanaman. Mikroorganisme yang lain mempunyai peranan dalam proses dekomposisi bahan organik. Banyak mikroorganisme yang menguntungkan, mampu memperbaiki pertumbuhan tanaman melalui peningkatan serapan hara dan mencegah timbulnya penyakit yang berasal dari tanah (Sutanto, 2002).

Atmosfer mengandung nitrogen dalam jumlah yang banyak (78%) dan beberapa jenis bakteri baik yang hidup bebas (non simbiosis) di dalam tanah maupun bersimbiosis dengan tanaman, mampu menambat N-udara yang selanjutnya diubah menjadi bentuk yang tersedia bagi tanaman. Pada saat ini yang banyak digunakan untuk pupuk hayati adalah: *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, dan *Phosphobacteria* (Sutanto, 2002).

Pupuk hayati atau *Biofertilizer* adalah semua bentuk bahan organik yang dapat meningkatkan ketersediaan unsur hara bagi tanaman sebagai akibat dari aktivitas mikroorganisme di dalamnya. Pupuk hayati mengandung mikroorganisme hidup (laten) penambat N<sub>2</sub>, pelarut fosfat, selulolitik, dan

sebagainya yang diberikan pada benih, tanah, atau areal pengomposan untuk meningkatkan jumlah dan aktivitas mikroorganisme. Bakteri *Rhizobium* merupakan salah satu jenis mikroorganisme yang digunakan sebagai inokulum pada pupuk hayati. *Rhizobium* berperan menambat N<sub>2</sub> bebas dari udara. Bakteri ini digunakan untuk memupuk tanaman legum seperti kacang-kacangan (Zulkarnain, 2009).

Pupuk hayati adalah inokulum berbahan aktif organisme hidup yang berfungsi untuk menambat hara tertentu atau memfasilitasi tersedianya hara dalam tanah bagi tanaman (Simanungkalit *et al.*, 2006). Pupuk mikrobiologis atau *Biofertilizer* atau pupuk hayati adalah pupuk yang mengandung mikroorganisme hidup yang ketika diterapkan pada benih, permukaan tanaman, atau tanah, akan mendiami rizosfer atau bagian dalam dari tanaman dan mendorong pertumbuhan dengan meningkatkan pasokan nutrisi utama dari tanaman (Wikipedia, 2013).

Menurut Bakar *et al.* (2013) pupuk hayati umumnya mengandung bakteri penambat N, mikroba pendegradasi selulosa dan mikroba pelarut fosfat. Penggunaan pupuk hayati dan batuan fosfat alam mampu meningkatkan ketersediaan P pada tanah andisol, meningkatkan pH tanah andisol, tinggi tanaman kering dan bobot buah segar.

Nitrogen dan fosfat merupakan dua unsur hara yang paling banyak diperlukan tanaman dan merupakan faktor pembatas pertumbuhan dan hasil tanaman. Kebutuhan pupuk N dan P dari tahun ketahun mengalami peningkatan (Sutanto, 2002). Pupuk hayati merupakan alternatif bagi petani untuk memanfaatkan pasokan nitrogen yang cukup besar, disamping memanfaatkan bentuk P tak tersedia menjadi bentuk tersedia. Melalui masukan teknologi rendah,

petani memperoleh keuntungan yang lebih besar. Menurut Manalu (2011) penggunaan *Rhizobium* membantu pertumbuhan *Acacia crassicarpa* selama masa semai dan dapat mengurangi penggunaan pupuk urea.

Pupuk hayati seperti *Rhizobium*, *Azotobacter* dan *Azospirillum* telah lama dimanfaatkan dan merupakan pupuk organik ramah lingkungan dan lebih ekonomis dibandingkan dengan pupuk kimia (Syaiful, 2012).

Diantara bakteri yang bermanfaat, koloni bakteri *Rhizobium* yang paling banyak digunakan untuk pupuk hayati. Koloni bakteri *Rhizobium* bersimbiosis dengan akar tanaman legum, membentuk bintil akar yang berperan dalam penyematan nitrogen. *Rhizobium* yang berasosiasi dengan tanaman legum mampu menyemat 100-300 kg N/ha dalam satu musim dan meninggalkan sejumlah N untuk tanaman berikutnya (Sutanto, 2002).

Menurut Suharjo (2001) bakteri *Rhizobium* masih efektif setelah satu musim berada dalam tanah tanpa tanaman kedelai, namun tanah-tanah bekas tanaman dengan inokulasi *R. japonicum* masih memerlukan inokulasi tambahan. Apabila tidak ada sumber inokulan dari pabrik tanah bekas tanaman kedelai yang telah diinokulasi *R. japonicum* satu musim yang lalu dapat digunakan sebagai sumber inokulum.

Menurut Surtingsih *et al.* (2009) bahwa pemberian *Rhizobium* dengan spesies campuran (*Rhizobium japonicum*, *R. phaseoli* dan *R. leguminosarum*) dengan dosis 10 ml dapat meningkatkan pertumbuhan biomasa tanaman, bintil akar dan produksi tanaman berat kering biji tanaman kedelai.